

СТАНОВИЩЕ

от проф. дбн Росица Конакчиева,

Биологически факултет, СУ“Св.Климент Охридски“

върху дисертационен труд на тема: „**Клетъчен биосензор за оценка на повърхностна биосъвместимост**“ за присъждане на ОНС „Доктор“ в професионално направление: 4.3. Биологически науки (Клетъчна биология) на **Светлана Иванова Иванова**

Представеният ми за становище дисертационен труд на тема: „Клетъчен биосензор за оценка на повърхностна биосъвместимост“ по обем и качество на изпълнение, поставени цел и задачи, материал и методи, резултати и обсъждане, изводи и литературен обзор, отговаря на съвременните изисквания и критерии за такъв вид научна продукция.

Темата е много актуална с перспективи за приложение на научните резултати в съвременната биомедицина и по-специално тъканно инженерство и регенеративна медицина. Предмет на дисертационния труд е създаването, характеризирание вкл. и стандартизиране на флуоресцентен биосензор на основата на живи клетки, който е в състояние да предоставя информация за функционалното състояние на клетките при взаимодействието им с определени субстрати посредством анализ на адхезивните контакти клетка – матрикс и по този начин може да бъде използван за оценка на биосъвместимостта на различни материали. Клетъчен биосензор за повърхностна биосъвместимост е създаден на основата на генетично манипулирани фибробласти (3T3 NIH), стабилно експресиращи флуоресцентно белязани белтъци, маркери за фибриларни и фокални адхезии. Избраната методология позволява да бъдат оценени степента на развитие на тези адхезии в една и съща клетка чрез тяхната различна топология и да бъдат получени убедителни данни, демонстриращи модулиране на адхезивните параметри в съответствие с тествания субстрат. Оценката е извършена чрез използване на естествени, както и набор от синтетични субстрати, базирани на полиакриламиден гел с различна еластичност и коатирани с естествения извънклетъчен матриксен фибронектин. Тази постановка създава вариращи условия за клетъчната адхезивност и позволява търсене на корелативност между основните адхезивни параметри – клетъчно спредирание, клетъчна поляризация и площ на фокалните и фибриларните адхезивни контакти.

Трудът е изготвен общо върху 132 страници, въведението мотивира категорично темата на дисертацията. Литературният обзор зема 40 страници и засяга детайлно научното знание по отношение компонентите и механизмите включени в активното взаимодействие на клетките с обкръжаващата среда. Разгледани са най-новите постижения, предизвикателства и проблеми за разрешаване в силно конкурентната област на тъканното инженерство и

регенеративната медицина, обосновано е създаването на сензор на основата на живи клетки като иновативно средство при реконструкцията на тъкани.

Целта на дисертацията е формулирана кратко и ясно – да се създаде подходящ клетъчен биосензор, чрез който да се провери хипотезата, че клетъчните адхезивни контакти и морфологията на клетките могат да се използват за стандартизирана оценка на повърхностна биосъвместимост на материали за нуждите на регенеративната медицина. Въз основа на целта са формулирани шест задачи, които поставят необходимостта от използване на съвременни и информативни, но същевременно трудоемки и изискващи голяма прецизност клетъчни и молекулярно биологични методи като: култивиране и трансформация на *E. coli* с цел подготовка на векторни конструкти за трансфекция на биосензора с придружаващи анализи за количествен и качествен контрол, култивиране и трансфекция на животински клетки от избраната линия NIH/3T3, флуцитометричен и имунофлуоресцентен анализ; конфокална и светлинна микроскопия; анализ на белтъци чрез SDS-PAGE и имуноблот, клетъчни анализи за преживяемост и пролиферация (MTT), специфични адхезивни тестове, подготовка на различни субстрати, дигитален образен анализ. Данните от образните анализи са обработени съответно за статистическа оценка където това е било необходимо, като е използван специализиран софтуер. Методите са описани компетентно и достатъчно подробно, което свидетелства за натрупания от докторантката експериментален опит.

Раздел „Резултати и дискусия“ заема 50 страници и е много добре илюстриран с комплексни фигури включващи снимки с високо качество на микроскопските образи, таблици, графики и схеми. В добър научен стил получената информация от конкретните експерименти е анализирана в детайли след всеки подраздел и дискутирана в контекста на приведената научна литература – сравнително голяма по обем – общо 239 специализирани източника. Включването на раздели 4.3.7. Интерпретация и анализ и 5. Обобщение допълват дискуссионната част като допринасят за общата завършеност на труда и по-доброто възприемане на резултатите.

В заключение са формулирани пет извода, които коректно отразяват получените резултати. Приемам напълно обобщените приноси от дисертационния труд, които очертават адекватно актуалността и иновативността на разработения и стандартизиран нов тип флуоресцентен биосензор на основата на живи клетки, както и приложимостта на разработения систематичен подход за оценка на биосъвместимостта на биоматериали.

Дисертацията е изготвена прецизно и на високо академично ниво съгласно законовите изисквания. Авторефератът отразява основните резултати и е изготвен обстойно и с необходимото качество. По темата на дисертацията са публикувани две специализирани научни статии с импакт фактор, едната от които в престижно

международно списание в областта на биоинженерните материали, представени са и две участия в научни конференции с международно участие. .

Заклучение. Въз основа на добре подбраните и прецизно използвани методи и получените научно-приложни резултати, съдържащи се в дисертацията, както и задълбочено проведеното им обсъждане считам, че представеният дисертационен труд на тема „Клетъчен биосензор за оценка на повърхностна биосъвместимост“ напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и на Правилника за неговото приложение. Докторантката е придобила значителен научен и изследователски опит и е овладяла ценни и съвременни методи за работа в избраната научна специалност клетъчна биология. Убедено препоръчвам на членовете на Научно жури, назначено със заповед № РД 38-692 /16.11.2017г. год. на Ректора на СУ да присъдят на Светлана Иванова Иванова образователната и научна степен ”Доктор” в професионално направление 4.3. „Биологически науки“, (Клетъчна биология).

20.02.2018

Изготвил становището:

(проф. дбн Росица Конакчиева)